

## シクロデキストリンを用いたエパルレスタットの溶解性および経皮吸収性の向上

著者	古石 誉之
雑誌名	星薬科大学紀要
号	56
ページ	13-22
発行年	2014-10-31
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1240/00000387/">http://id.nii.ac.jp/1240/00000387/</a>

## シクロデキストリンを用いたエパルレスタットの溶解性および経皮吸収性の向上

古 石 誉 之

星薬科大学 薬品物理化学教室

## Improvement of solubility and skin permeation of epalrestat by cyclodextrin

Takayuki FURUISHI

Department of Physical Chemistry, Hoshi University

## 1. はじめに

生活習慣病の一つとして挙げられる糖尿病は、日本国内で約 740 万人以上が罹患しているとされており<sup>1)</sup>、今後もさらに増加していく傾向にあると予想される。糖尿病治療には、患者の血糖値のコントロールを行うことが重要であるが、その目的の一つとして、合併症の発症予防が挙げられる。糖尿病性神経障害 (Diabetic neuropathy : DN) は、糖尿病性合併症の中で最も早期から出現する合併症である<sup>2, 3)</sup>。DN とは「糖尿病患者にみられる神経症状や神経所見で糖尿病以外の原因によるものを除外した神経障害」を指し<sup>4)</sup>、それは、大きく四肢に生じる非対称性の単発性神経障害と対称性の多発性神経障害に分けることができる<sup>5)</sup>。単発性神経障害は、末梢神経に突然生じるもので、複視などの眼筋麻痺を生じるが、発症率は低く、比較的良性的な神経障害である。一方、多発性神経障害は、神経末梢部から始まり、運動神経、感覚神経、自律神経に障害が生じる。そのうち、運動障害が進行すると、筋力低下および筋萎縮が起きる。また、感覚障害では、痛みに鈍くなる結果、外傷や感染症に気付かず、無痛性潰瘍、足の変形などが生じ、壊疽や足の切断につながる。さらには、自律神経障害が進行すると起立性低血圧および下痢などを発症し、会社や家庭における生活の質 (Quality of life : QOL) を大きく損なうほか、突然死の危険性も増大する<sup>6, 7)</sup>。平成 14 年度に厚生労働省が発表した糖尿病実態調査報告によると<sup>1)</sup>、糖尿病治療を受けており、かつ、合併症があると答えた人のうち、DN 患者は 15.6% を占め、糖尿病性合併症の中で最も高い割合であった。また、この結果は男女問わず同様の傾向であり、年齢とともに罹患率が増加する傾向を示すことから<sup>3)</sup>、糖尿病患者全体を脅かす合併症であると言える。

エパルレスタット (EPL, Fig. 1) は、日本の臨床現場において用いられている唯一の DN 治療薬であり、キネダック錠<sup>®</sup> 50 mg 錠として上市されている<sup>8)</sup>。EPL は、アルドース還元酵素を特異的に阻害し、ポリオール代謝活性の亢進を抑制する。その結果、神経内ソルビトールの蓄積を減少させることにより、DN における自覚症状及び神経機能異常を改善する。しかし、EPL は血中半減期が 1.8 時間と非常に短いため、1 日 3 回の経口投与が求められる。また、DN は慢性合併症であることから、長期にわたって EPL を服用しなければならないことが予想される。1 日の薬物投与回数が多いほど、患者の服薬コンプライアンスは低下するとの報告もあることから<sup>9)</sup>、DN 患者にとって簡便で、かつ投与回数を減少することができる剤形を提供することは、患者の薬物服用に関する負担を低減することによって、服薬コンプライアンスの向上につながることを期待される。

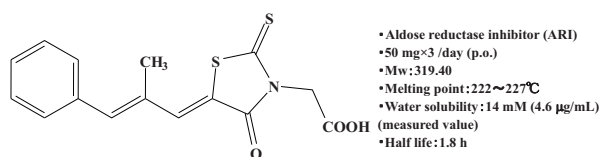


Fig. 1. Chemical structure and properties of Epalrestat (EPL).

近年、全身作用を目的として皮膚を投与部位とする経皮吸収型製剤 (Transdermal delivery system : TDS) が注目されている。TDS は、制御された速度で長時間薬物を送達できる、肝臓での初回通過効果の回避により生物学的利用率を改善できる、必要に応じて投与を容易に中断できる、小児や高齢者などの嚥下困難な患者への適用が可能であるなどの利点があり<sup>10-11)</sup>、新し

い薬物送達システムとして期待されている。そのため、高齢化社会、在宅医療の拡大といった医療環境の変化の中で、その存在価値はますます高まるものと予想される。したがって、EPLの経皮吸収化が可能であれば、DN患者にとって有用であると考えられる。

皮膚の構造は、表皮 (Epidermis) と真皮 (Dermis) からなり、その下に皮下組織 (Subcutaneous layer) が発達している (Fig. 2)。表皮は、扁平上皮細胞の重層構造からなり、角質層 (Stratum corneum : SC)、顆粒層 (Granular stratum)、有棘層 (Stratum spinosum)、および基底層 (Basal stratum) から構成される。最上層である SC は、厚さ 20  $\mu\text{m}$  からなる死細胞の堆積層であり、水分の蒸発や外部からの異物侵入を防ぐバリアとして存在する。薬物の皮膚透過経路は、毛包や汗腺などの付属器官を介する経路、角質細胞内を通る経路、角質細胞間隙を通る経路に分けられる。これらのうちで、主に角質細胞間隙が薬物の透過経路と言われている<sup>12)</sup>。角質細胞間隙では、脂質層と水層が規則正しく重層したラメラ構造を形成している。したがって、この角質層の存在により、薬物透過性は消化管、鼻粘膜、肺粘膜などの他の上皮膜と比較して著しく低い。

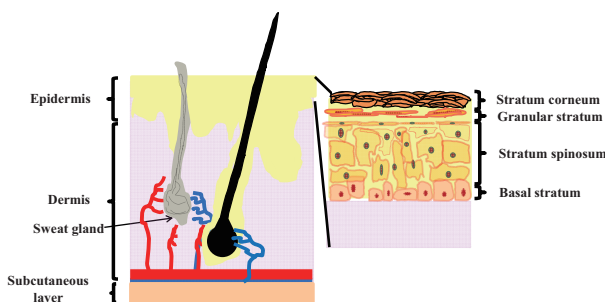


Fig. 2. Structure of human skin.

角質バリアを低下させるための方法の一つとして、シクロデキストリン (CD, Fig. 3) を用いた研究が行われている<sup>13-16)</sup>。CD は、数個の D-グルコースが -1,4-グルコシド結合により結合し、環状構造をとった環状オリゴ糖の一種である。CD は、その D-グルコース数が 6、7 ならびに 8 個の天然 CD と呼ばれる  $\alpha$ -、 $\beta$ -ならびに  $\gamma$ -CD として知られている<sup>17-18)</sup>。また、CD の水酸基に種々の置換基を導入し、天然 CD の物性や機能性を改善した誘導体が合成されている<sup>19)</sup>。CD の性質は、環の外側および内側がそれぞれ親水性および疎水性となっており、その疎水性空洞内に様々な分子を取り込むことにより、包接複合体を形成する。薬学分野における CD の利用は、原薬の物性改善、特に難水溶性薬物の溶解性および化学的安定性の改善などを目的として広く用いられている<sup>20-25)</sup>。また、CD の TDS への応用研究では、薬物の基剤中での溶解性や拡散性に影響を与えることによって、

基剤中の熱力学的活動度を高める、皮膚角質層に直接作用して薬物の皮膚透過性を亢進する、薬物やプロドラッグの皮膚内代謝に影響を及ぼし、薬物の経皮吸収性を改善することなどが知られている<sup>13-16)</sup>。また、EPL は、水に対する溶解度が 14  $\mu\text{M}$  (実測値) であることから、難水溶性薬物に分類される。したがって、CD を用いることは EPL の溶解性改善に加え、EPL の皮膚透過性を向上させるための方法として期待できる。

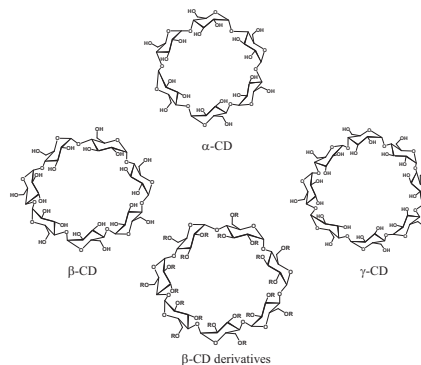


Fig. 3. Chemical structures of Cyclodextrins (CDs).

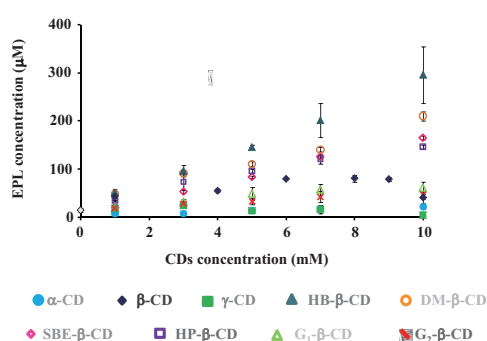
そこで、本研究では、CD を用いた EPL の溶解性および経皮吸収性改善を行った。まず、EPL の水への溶解性に対して CD が及ぼす影響を明らかにするために溶解度相図の作製を行った。また、EPL の溶解性改善を目的に、EPL と  $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎を試みた。さらに、EPL の溶解性に及ぼす粉碎条件の影響についても検討した。次に、EPL と  $\beta$ -CD 誘導体を混合粉碎することにより得られた粉碎混合物 (GM) を用いて、固体状態における EPL と  $\beta$ -CD 誘導体間の相互作用を検討した。最後に、EPL の皮膚透過性に及ぼす  $\beta$ -CD 誘導体の影響を明らかにするために、ヘアレスマウス皮膚透過性試験を行った。また、EPL の経皮吸収性向上を目的に吸収促進剤を併用した検討を加えた。

## 2. EPL の溶解性改善に関する検討

### 2-1. 溶解度相図の作製

EPL の水への溶解性に及ぼす CD 類の影響を明らかにするために、溶解度相図を作製した (Fig. 4)。EPL の溶解度は、 $\alpha$ -および  $\gamma$ -CD の濃度の増加によって変化が認められなかった。Higuchi らの分類<sup>26)</sup> から、 $\beta$ -CD における相図は Bs 型を示した。また、 $\beta$ -CD の濃度 (6~9 mM) のプラトー部分から算出された薬物と  $\beta$ -CD の化学量論比は 1 : 2 であることがわかった。 $\beta$ -CD では、6 mM のとき、EPL 溶解度は EPL 単味 (14  $\mu\text{M}$ ) に対して約 5 倍増加した。各種  $\beta$ -CD 誘導体は、先の分類より AL 型の相図を示し、薬物と  $\beta$ -CD 誘導体の化学量論比は 1 : 1 であった。Hydroxybutyl (HB)-、

Dimethyl (DM)-、Sulfoethyl ether (SBE)-、Hydroxypropyl (HP)-、Glucosyl (G1)- および Maltosyl (G<sub>2</sub>)- $\beta$ -CD では、それぞれ 10 mM のとき、EPL の溶解性は EPL 単味に対して、約 21、15、12、10、4 ならびに 3 倍それぞれ向上した。これらのことより、CD による溶解性改善は疎水結合、ファンデルワールス力などの相互作用ならびに CD 空洞内に存在する高いエネルギーを持つ水分子の放出促進によるものと考えられた<sup>27)</sup>。



**Fig. 4. Phase solubility diagrams of EPL/CDs systems.** Each point represents the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

Table 1 は、溶解性改善効果が認められた  $\beta$ -CD およびそれらの誘導体の相図において、上昇直線の傾きと切片の値から算出した安定度定数 (Kc) および complexation efficiency (CE) を示す。HB- $\beta$ -CD の Kc は  $1850 \text{ M}^{-1}$  となり、他の  $\beta$ -CD およびその誘導体と比較して最も高い値となった。このことは、EPL と HB- $\beta$ -CD との複合体が最も安定であることを示唆している。また、HB- $\beta$ -CD の CE は約 0.03 であり、 $\beta$ -CD およびその誘導体の中で最大値を示した。これは、100 分子の CD のうち 3 分子が複合体形成に参与していることを示している<sup>28)</sup>。この Kc および CE の増加は、EPL と HB- $\beta$ -CD の複合体形成が促進したことを示している。以上より、今回使用した CD の中で、HB- $\beta$ -CD が EPL の溶解性向上に最も寄与することが明らかとなった。

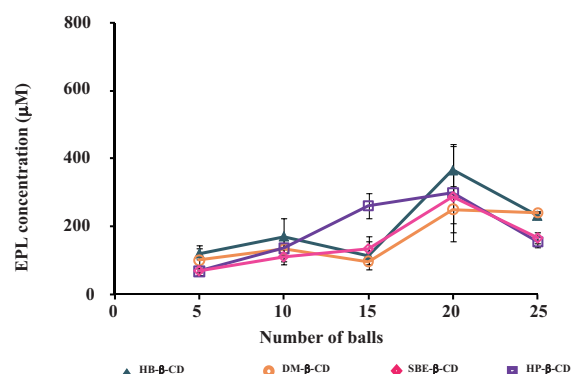
**Table 1. Kc and CE values of EPL/ $\beta$ -CD and its derivatives systems.**

$\beta$ -CD and its derivatives	Kc ( $\text{M}^{-1}$ )	CE
$\beta$ -CD	470	0.007
G <sub>2</sub> - $\beta$ -CD	201	0.003
G <sub>1</sub> - $\beta$ -CD	268	0.004
HP- $\beta$ -CD	810	0.011
SBE- $\beta$ -CD	1135	0.017
DM- $\beta$ -CD	1135	0.017
HB- $\beta$ -CD	1850	0.028

## 2-2. $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎法による EPL の溶解性向上

溶解度相図より、CD を用いても水中での EPL の溶解性は数倍程度しか改善しなかった。難水溶性物質の溶解性改善として幾つかの方法が提示されているが、混合粉碎法は調製した試料中に残留溶媒の心配がない、操作が簡便であるといった利点から注目されている。この混合粉碎による溶解性改善の機構は、一般的に化合物に機械的な作用を与えることによって、その粒子サイズの減少と共に、表面エネルギーの増大、結晶格子の欠陥、格子不整・無定型構造、比表面積の増大などが生じることによるものと考えられている<sup>29-34)</sup>。また、この過程でおきる種々の反応を、久保は、“メカノケミストリー (Mechanochemistry)” と呼んでいる<sup>35)</sup>。そこで、EPL の溶解性向上を目的に、 $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎を試みた。

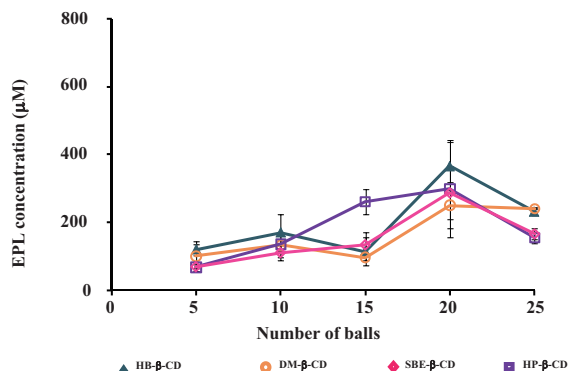
EPL と各種  $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎に用いるガラスボールの個数が EPL の溶解性向上に与える影響について検討を行った。Fig. 5 は、モル比 EPL :  $\beta$ -CD 誘導体 = 1 : 1 の試料を粉碎し、粉碎時間を 24 時間としたときの水中での EPL 濃度を示す。いずれの  $\beta$ -CD 誘導体においてもボールの個数は 20 個で EPL 濃度が最大値となったことから、ボールの個数には最適値があると考えられた。これは、ボールの個数により、粉碎効率が変化する中で、衝撃エネルギーや EPL と  $\beta$ -CD 誘導体との接触回数が増加したことで、相互作用が生じたものと推察された。



**Fig. 5. Effect of the number of balls on EPL solubility with  $\beta$ -CD derivatives.** Each point represents the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

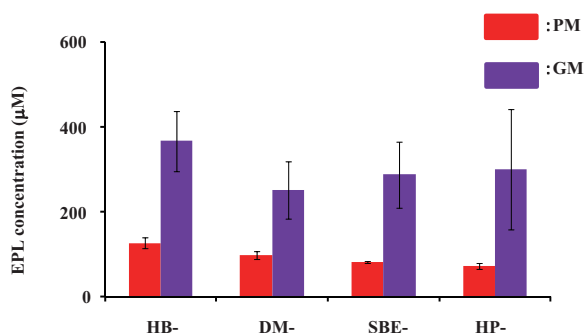
EPL と各種  $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎における、粉碎時間が EPL の可溶化に与える影響について検討した。Fig. 6 は、混合粉碎においてモル比 EPL :  $\beta$ -CD 誘導体 = 1 : 1 とし、ボールの個数を 20 個と設定したときの水中での EPL 濃度を示す。いずれの  $\beta$ -CD 誘導体においても、粉碎時間が 24 時間までは EPL 濃度は 300 M 前後と向上したものの、その後は、EPL 濃度の増加は

認められなかった。粉碎時間が 24 時間まで、EPL 濃度が上昇したことは、粉碎時間が増えるにつれて、EPL と  $\beta$ -CD 誘導体の接触時間が増加し、EPL が非晶質化した可能性が考えられた。



**Fig. 6. Effect of co-grinding time on EPL solubility with  $\beta$ -CD derivatives.** Each point represents the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

Fig. 7 は、EPL :  $\beta$ -CD 誘導体のモル比 = 1 : 1 において、Fig. 5 および 6 より得られた最適な粉碎条件を用いて混合粉碎を行ったときの水中での EPL 濃度を示す。いずれの  $\beta$ -CD 誘導体においても、GM の EPL 濃度は、PM より約 3 倍以上改善した。また、このときの GM における EPL 濃度は、作製した相図から求めた同一 CD 濃度 (5 mM) における EPL 濃度と比較して約 2 倍以上向上した。これは、CD の持つ可溶化作用、混合粉碎による EPL の非晶質化ならびに微粒子形成などに起因したと推察された。したがって、混合粉碎法は CD の添加量を抑えられる有用な溶解性向上の手法と推察された。

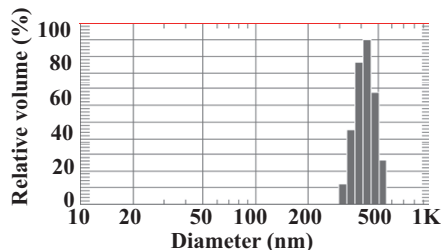


**Fig. 7. Effect of co-grinding with  $\beta$ -CD derivatives on EPL solubility.** Each bar represents the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

### 2-3. 粒度分布測定

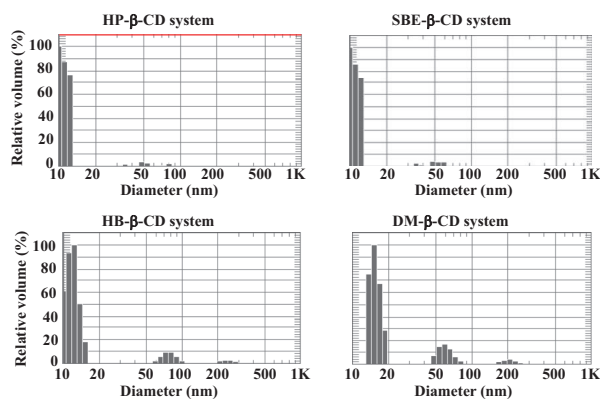
難溶性薬物と CD を混合粉碎することにより、水溶液中で薬物の微粒子が生成することは、既に報告されてい

る<sup>31-34</sup>。溶解度相図の結果から EPL と CD とが複合体形成をすることにより EPL の可溶化が促進されることを示しているが、本項では  $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎による、薬物の微粒子形成の有無について検討を行った。EPL を単独粉碎したときは、430 nm 付近に粒度の分布が認められた (Fig. 8)。



**Fig. 8. Particle size distribution of EPL (Grinding).**

Fig. 9 は、モル比 EPL :  $\beta$ -CD 誘導体 = 1 : 1 として、ガラスボールを 20 個用い、24 時間混合粉碎して調製した GM の精製水中での粒度分布を示す。いずれの  $\beta$ -CD 誘導体との GM でも、20 nm 以下に微粒子の生成が確認された。薬物の単独粉碎で得られた平均粒子径は 430 nm であったことから、 $\beta$ -CD 誘導体との GM で認められた 20 nm 以下の微粒子は、混合粉碎によって新たに生じたものと言える。薬物と  $\beta$ -CD 誘導体を混合粉碎することによる EPL の溶解性向上 (Fig. 7) は、CD の可溶化作用だけでなく、混合粉碎により薬物の粒子径が低下した可能性も考えられた。



**Fig. 9. Particle size distribution of EPL/ $\beta$ -CD derivatives systems.**

### 3. 固体状態における EPL と各種 $\beta$ -CD 誘導体の相互作用に関する検討

EPL と  $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎時に生じる、固体中での両者の相互作用について、示差走査熱量 (DSC)、粉末 X 線回折 (PXRD) ならびに赤外吸収スペクトル



(IR) 測定により検討した。Fig. 10 は、EPL 単味、 $\beta$ -CD 誘導体単味、両者の PM ならびに GM における DSC 測定の結果をそれぞれ示している。EPL 単味では、224 に EPL 結晶に由来する吸熱ピークが認められた。また、各種 $\beta$ -CD 誘導体単味の 100 前後に見られるピークは、脱水により生じたものと考えられた。一方、全ての PM において、EPL 単味および各種 $\beta$ -CD 誘導体単味に由来する吸熱ピークが認められた。また、HB-および HP- $\beta$ -CD との PM では、EPL 由来とされる吸熱ピークの温度が低下していることから、EPL と HB-または HP- $\beta$ -CD 間で相互作用が生じている可能性も推察された。HB-および SBE- $\beta$ -CD との GM では、EPL の特徴的な吸熱ピークが PM と比較して減少していることがわかった。さらに、DM-および HP- $\beta$ -CD との GM においては、EPL の特徴的な吸熱ピークが消失した。

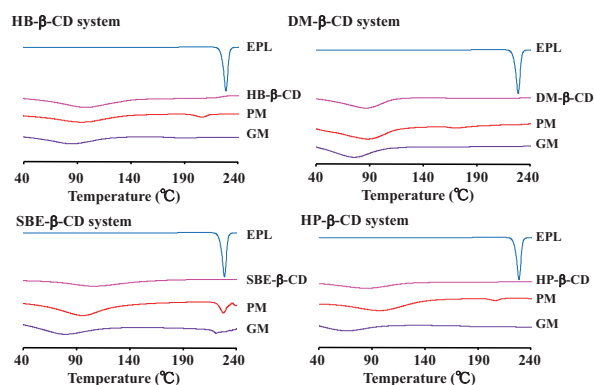


Fig. 10. DSC curves of EPL/ $\beta$ -CD derivatives systems.

PXRD 測定の結果 (Fig. 11)、いずれの $\beta$ -CD 誘導体との PM においても、EPL の特徴的な回折ピークが現れた。しかし、GM では、EPL 由来の結晶ピークの存在は認められず、ハローパターンを示した。また、新たな結晶に由来するピークの存在も確認されなかった。

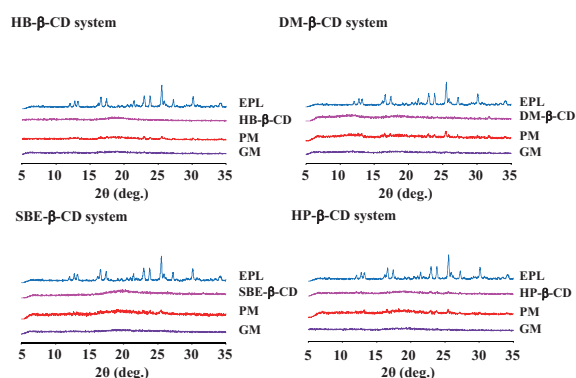


Fig. 11. PXRD patterns of EPL/ $\beta$ -CD derivatives systems.

IR スペクトル測定からは、EPL と $\beta$ -CD 誘導体の分子間相互作用について検討した。Fig. 12 より、EPL 単味の 1743、1674 ならびに 1556  $\text{cm}^{-1}$  の鋭いピークは、カルボキシル基、アミド基ならびにチオカルボニル基にそれぞれ由来する。一般的に、カルボン酸が二量体を形成すると、1720~1706  $\text{cm}^{-1}$  の領域で吸収することが知られている<sup>40)</sup>。しかし、EPL の場合、カルボン酸のピークは、その領域よりも高波数側で認められたことから、単量体で存在していることが推察された。また、いずれの $\beta$ -CD 誘導体との PM および GM においても、EPL に由来する官能基のシフトは確認されなかった。

以上の結果から、DSC 測定より、EPL と HB-または HP- $\beta$ -CD との PM では、EPL と $\beta$ -CD 誘導体間の相互作用が生じている可能性はあるものの、PXRD および IR スペクトル測定では、その推察を支持する結果を得ることはできなかった。また、EPL は $\beta$ -CD 誘導体と混合粉砕することにより、EPL は $\beta$ -CD 誘導体中に分子分散した状態で存在していることが明らかとなった。

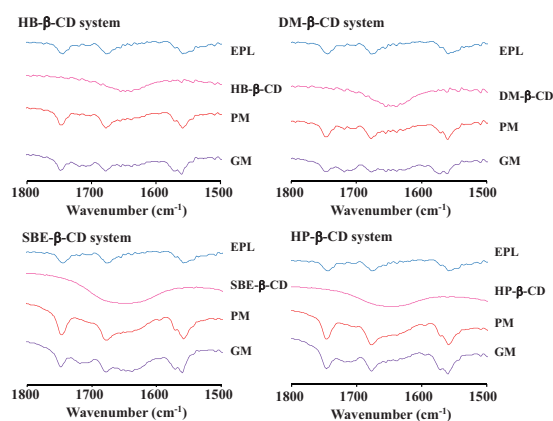


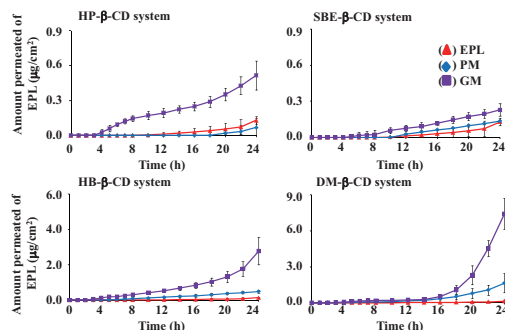
Fig. 12. IR spectra of EPL/ $\beta$ -CD derivatives systems.

#### 4. EPL の皮膚透過性改善に関する検討

##### 4-1. EPL の皮膚透過性に及ぼす各種 $\beta$ -CD 誘導体の影響

EPL の皮膚透過性に及ぼす各種 $\beta$ -CD 誘導体の影響について検討するために、*In vitro* ヘアレスマウス皮膚透過性試験を行った。Fig. 13 は、EPL 単味、 $\beta$ -CD 誘導体との PM ならびに GM を用いたときの EPL 皮膚透過プロファイル、Table 2 は、これら EPL 皮膚透過プロファイルから算出された各パラメーターをそれぞれ示している。薬物単味および PM と比較して、GM ではいずれの $\beta$ -CD 誘導体を用いても、EPL の皮膚透過性は向上した。これは、GM 溶液中の EPL 濃度が薬物単味および PM と比較して高い値を示したことから、EPL の溶解性向上が経皮吸収性改善に寄与するものと考えられた。薬物が皮膚を透過するメカニズムは受動拡散であるため、基剤中の薬物濃度が皮膚透過性を決定する重要

な因子となる。そのため、基剤である水への薬物の溶解性を向上させたことが、EPL の皮膚透過性の改善につながったものと推察された。



**Fig. 13. Skin permeation profiles of EPL from EPL/ $\beta$ -CD derivatives systems.** Each point represents the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

**Table 2. Skin permeation parameters of EPL from EPL/ $\beta$ -CD derivatives systems.**

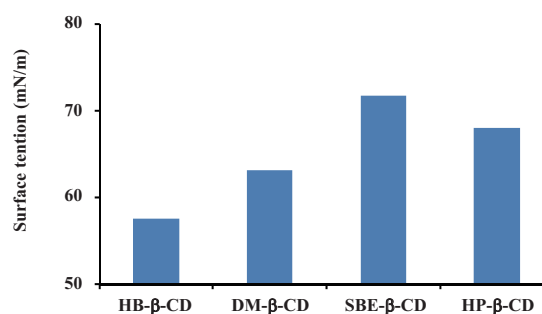
Sample	Flux ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ )	Lag time (h)	Q ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	S ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ .)	K <sub>p</sub> ( $\times 10^{-3}$ cm/h)	
EPL intact	0.01 $\pm$ 0.0002	15.8 $\pm$ 3.1	0.13 $\pm$ 0.03	4.6 $\pm$ 1.1	3.09 $\pm$ 0.71	
PM	HB- $\beta$ -CD	0.03 $\pm$ 0.002	8.1 $\pm$ 1.2	0.48 $\pm$ 0.08	40.4 $\pm$ 4.2	0.75 $\pm$ 0.10
	DM- $\beta$ -CD	0.18 $\pm$ 0.136	13.7 $\pm$ 3.6	1.65 $\pm$ 0.80	31.4 $\pm$ 2.8	5.83 $\pm$ 4.36
	SBE- $\beta$ -CD	0.01 $\pm$ 0.001	9.7 $\pm$ 1.6	0.13 $\pm$ 0.01	26.2 $\pm$ 0.9	0.36 $\pm$ 0.06
	HP- $\beta$ -CD	0.01 $\pm$ 0.013	18.6 $\pm$ 1.0	0.10 $\pm$ 0.08	23.3 $\pm$ 2.5	0.47 $\pm$ 0.55
GM	HB- $\beta$ -CD	0.28 $\pm$ 0.127	14.0 $\pm$ 3.1	2.78 $\pm$ 0.78	117.0 $\pm$ 22.8	2.42 $\pm$ 1.18
	DM- $\beta$ -CD	1.07 $\pm$ 0.199	17.4 $\pm$ 0.6	7.44 $\pm$ 1.30	80.2 $\pm$ 21.8	13.34 $\pm$ 4.39
	SBE- $\beta$ -CD	0.01 $\pm$ 0.005	6.4 $\pm$ 4.2	0.23 $\pm$ 0.05	91.8 $\pm$ 25.1	0.14 $\pm$ 0.06
	HP- $\beta$ -CD	0.03 $\pm$ 0.003	3.0 $\pm$ 1.0	0.52 $\pm$ 0.13	95.8 $\pm$ 45.5	0.39 $\pm$ 0.23
Each value is the mean $\pm$ S.D. (n=3).						

Each value is the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

また、各種 $\beta$ -CD 誘導体との GM のなかでは、EPL の皮膚透過性は DM- $\beta$ -CD > HB- $\beta$ -CD > HP- $\beta$ -CD > SBE- $\beta$ -CD の順に向上し、DM- $\beta$ -CD を用いたときに最も高い Flux ( $1.07 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ) を示し、その値は EPL 単味と比較して約 100 倍増加した。また、HB-および DM- $\beta$ -CD の透過係数 ( $K_p$ ) は、HP-および SBE- $\beta$ -CD よりも高い値を示した。DM- $\beta$ -CD の薬物皮膚透過性向上メカニズムの一つとして、角質の細胞間脂質に存在するコレステロールを引き抜く作用が知られている<sup>14-41)</sup>。したがって、HB-および DM- $\beta$ -CD による EPL の皮膚透過性改善は、EPL の水に対する溶解性の向上のみならず、両 $\beta$ -CD 誘導体が角質に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。

一般的に界面活性作用を持つ吸収促進剤の皮膚透過性向上メカニズムの一つとして、角質の細胞間脂質に作用し、そのラメラ構造を変化させることが知られている<sup>42)</sup>。各種 $\beta$ -CD 誘導体水溶液の表面張力を測定した結果、

SBE- $\beta$ -CD > HP- $\beta$ -CD > DM- $\beta$ -CD > HB- $\beta$ -CD の順に値は減少した (Fig. 14)。表面張力の低下は界面活性作用の強さを表すため、界面活性作用は HB- $\beta$ -CD > DM- $\beta$ -CD > HP- $\beta$ -CD > SBE- $\beta$ -CD の順となった。したがって、HB-および DM- $\beta$ -CD による EPL の皮膚透過性向上は、両者の界面活性作用が角質に対して影響を及ぼした可能性も推察された。Ishiguro らは、CD 濃度が 5 mM のとき HB-および DM- $\beta$ -CD の表面張力がそれぞれ 51.5 および 52.7 mN/mであることを示しており、HB- $\beta$ -CD の表面張力が DM- $\beta$ -CD と比較して低い値であることを報告している<sup>43)</sup>。本研究では CD 濃度が 0.1 mM の時の表面張力を測定しているが、彼女らの報告同様、HB- $\beta$ -CD の表面張力の値は DM- $\beta$ -CD よりも低いことがわかった。しかし、DM- $\beta$ -CD と比較して、HB- $\beta$ -CD は界面活性作用が強いにもかかわらず、GM における EPL の皮膚透過性は DM- $\beta$ -CD よりも低下した。DM- $\beta$ -CD による EPL の皮膚透過の促進作用は、水への薬物溶解性向上、DM- $\beta$ -CD の持つ界面活性作用が角質に与える影響に加えて、前述した細胞間脂質のコレステロール抽出作用によると推察され、HB- $\beta$ -CD と比較して高い経皮吸収改善を達成できたものと考えられた。



**Fig. 14. Surface tension values of  $\beta$ -CD derivatives solution.**

Fig. 15 は、試料溶液中において EPL、CD ならびに両者の包接複合体との皮膚透過における関係を表す。EPL、CD ならびに包接複合体は平衡反応で成立しており、その包接複合体が皮膚に近づく、腸管における包接複合体からなる薬物の吸収と同様に<sup>44)</sup>、遊離薬物のみが皮内に侵入し<sup>45)</sup>、血中に移行すると考えられる。また、Table 2 より、EPL と HB-または DM- $\beta$ -CD の  $K_C$  は、それぞれ 1850 および 1135  $\text{M}^{-1}$  であり、HB- $\beta$ -CD の方が高い値を示した。したがって、EPL と HB- $\beta$ -CD との包接複合体は DM- $\beta$ -CD を用いたときより安定であるため、遊離する EPL は減少し、試料溶液から皮膚に対する EPL の分配性が低下したために、EPL の皮膚透過性は減少した可能性が考えられた。

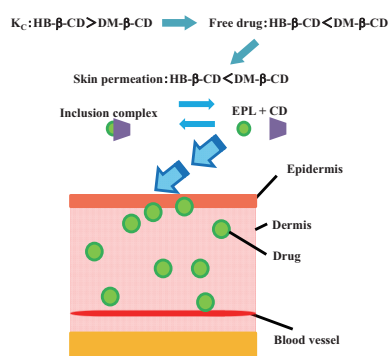


Fig. 15. Scheme showing drug permeation from inclusion complex on the skin surface.

#### 4-2. EPL の経皮吸収性向上を目的とした吸収促進剤の探索

薬物の皮膚透過における最大の障壁は角質であるが、この角質の透過性を向上させるための手法として、吸収促進剤を用いた方法が最も広く使用されている<sup>42)</sup>。吸収促進剤の代表的な例としては、脂肪酸、低級および多価アルコール類、イオン性および非イオン性界面活性剤、テルペン類、有機酸などが挙げられる<sup>42)</sup>。経皮吸収促進剤の条件は、薬理作用、毒性、刺激性を有しないこと、皮膚透過の向上効果が可逆的であること、無味無臭で安価であることなどの条件を満たすことが望まれる<sup>10)</sup>。しかし、吸収促進剤は、すべての薬物に同じような効果を与えるとは限らず、薬物と促進剤の組み合わせをスクリーニングすることは不可欠である。また、薬物とCDとの複合体形成された系に吸収促進剤を併用し、薬物の皮膚透過性および移行性に与える影響について検討された報告は少ない。そこで、EPLの更なる皮膚透過性改善を目的に、最もEPLの経皮吸収性向上が認められたDM-β-CDを用いたGMとの系に吸収促進剤を添加した検討を行った。なお、今回用いた促進剤は基剤である水に溶解するものを選択した。

Table 3は、EPLとDM-β-CDとのGMに、吸収促進剤濃度を1%として併用したときのEPL皮膚透過パラメーターを示す。吸収促進剤を併用しなかったとき(Table 4)と比較して、N-methyl-2-pyrrolidone (NMP)、Propylene glycol (PG)ならびにUreaを用いたときのFluxは約1.3から2.0倍上昇した。これらは、吸収促進剤を併用しない場合と比べて、試料溶液中におけるEPL濃度の向上が認められなかったにもかかわらず、EPLの皮膚透過性は改善した。NMPは、角質層の脂質を溶解させることでEPLの皮膚透過性が上昇したと考えられた。PGの経皮吸収促進作用としては、PG自身と薬物とが共に皮膚中に侵入する作用、すなわち、キャリアー効果によると言われており<sup>42)</sup>、そのキャリアー効果によってEPLの皮膚透過性は向上したと考えられ

た。また、Ureaでは、その保湿効果により皮膚の水分量を増やすことで、角質細胞間脂質に作用し、そのラメラ構造を変化させてEPLの経皮吸収性を上昇させるものと推察された<sup>46)</sup>。一方、Polyoxyethylenelauryl ether (POE)ならびにSucrose fatty acid ester (SE 1816および1216)を用いたときには、EPLのFluxの増加は認められなかった。

Table 3 Skin permeation parameters of EPL from EPL/DM-β-CD systems with various enhancers (1% w/w).

Classification of enhancers	Enhancers	Flux (μg/cm <sup>2</sup> /h)	Lag time (h)	Q (μg/cm <sup>2</sup> )	S (μg/mL)	K <sub>p</sub> (×10 <sup>-3</sup> cm/h)
Surfactant/ Solubilizer	NMP	2.05 ± 0.94	18.0 ± 0.6	13.94 ± 6.96	47.5 ± 15.4	43.2 ± 24.3
	POE	0.62 ± 0.11	9.4 ± 0.8	9.00 ± 1.19	56.0 ± 7.0	11.2 ± 2.4
	SE 1816	0.58 ± 0.30	18.4 ± 0.1	3.80 ± 1.86	121.4 ± 20.9	4.8 ± 2.6
	SE 1216	0.07 ± 0.03	14.2 ± 2.2	0.69 ± 0.19	139.1 ± 32.5	0.5 ± 0.3
Alcohol	PG	1.38 ± 1.03	18.2 ± 0.6	9.31 ± 6.73	57.1 ± 1.6	24.2 ± 18.1
Moisturizer	Urea	2.07 ± 1.02	18.0 ± 0.8	14.12 ± 6.71	87.9 ± 7.4	23.6 ± 11.8

Each value is the mean ± S.D. (n=3).

また、皮膚透過性向上が認められたNMP、PGならびにUreaでは、添加濃度を10%としたときのEPLの皮膚透過性に及ぼす影響について検討を行った (Fig. 16, Table 6)。その結果、PGおよびUreaにおいて、添加濃度を1%としたときと比較してEPLの皮膚透過性改善が示された。特に、Ureaを用いたときに最もFluxは向上し、その値は2.96 μg/cm<sup>2</sup>/hとなりEPL単味 (0.01 μg/cm<sup>2</sup>/h)と比較して約300倍増加した。

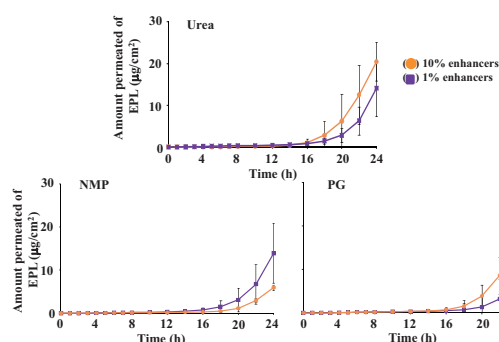


Fig. 16. Effect of the enhancers concentration on skin permeation profiles of EPL from EPL/DM-β-CD systems. Each point represents the mean ± S.D. (n=3).



**Table 4. Effect of the enhancers concentration on skin permeation parameters of EPL from EPL/DM- $\beta$ -CD systems.**

Enhancers	Flux ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ )	Lag time (h)	Q ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	S ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$K_p$ ( $\times 10^{-3} \text{ cm}/\text{h}$ )
NMP	0.91 $\pm$ 0.09	18.1 $\pm$ 0.2	5.97 $\pm$ 0.61	6.2 $\pm$ 0.3	147.3 $\pm$ 16.0
PG	2.76 $\pm$ 1.15	18.0 $\pm$ 0.9	18.35 $\pm$ 6.47	51.8 $\pm$ 7.4	53.3 $\pm$ 23.5
Urea	2.96 $\pm$ 0.34	17.5 $\pm$ 1.6	20.48 $\pm$ 4.61	219.7 $\pm$ 6.9	13.5 $\pm$ 1.6

Each value is the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

Urea で促進効果を示したのは、その保湿効果による角質細胞間脂質への作用だけでなく、EPL の溶解性を向上させることにより、薬物透過が促されたと考えられた。また、PG においては、吸収促進剤の添加濃度を増やしても、試料溶液中の EPL 濃度の上昇は認められなかったにもかかわらず、EPL の皮膚透過性は改善した。これは、前述したように PG は EPL の溶解性には寄与せず、PG のキャリアー作用により EPL の皮膚透過性が向上したと考えられた。一方で、NMP 濃度を 10% としたときに EPL の皮膚透過性が減少した理由は、試料溶液中の EPL の溶解性が減少したためと考えられた。以上の結果より、吸収促進剤の中で Urea の濃度を 10% として併用することにより、EPL の更なる経皮吸収性の向上が達成された。また、EPL/DM- $\beta$ -CD/吸収促進剤の三成分における EPL の皮膚透過性の向上は、EPL の溶解性改善だけでなく、DM- $\beta$ -CD および吸収促進剤が角質細胞間脂質の構造変化を引き起こすことに起因しているものと考えられた。

最も EPL 皮膚透過性改善の認められた EPL と DM- $\beta$ -CD との GM に Urea を 10% の濃度で併用した系で得られた Flux を用い、临床上必要な EPL の皮膚からの吸収速度について算出した。EPL のインタビューフォーム<sup>8)</sup> より得られたヒト有効血中濃度 (500 ng/mL、 $C_{ss}$ )、薬物量 (50 mg/回、D)、経口時の時間曲線下面積 (6435 ng·h/mL、 $AUC_{po}$ ) を用いて、吸収速度を 1 および 2 の式から算出した。なお、ヒトのバイオアベイラビリティ (F) が不明なため、ラットにおける値 (0.8) を使用した<sup>8)</sup>。本研究では水を用いて EPL の透過性試験を行っており、実際の製剤化には水系の基剤 (水系アクリル基剤、ゲル基剤など) を使用することが好ましいと思われる。そこで全身循環を目的とし、水系基剤を用いた TDS である、帯状疱疹後疼痛治療薬 LIDODERM<sup>® 47)</sup> を参考にし、貼付面積は 140  $\text{cm}^2$  とした。

$$CL_{tot} = \frac{F \cdot D}{AUC_{po}} \quad (1)$$

$$\frac{D}{t} = \frac{C_{ss} \cdot CL_{tot}}{F} \quad (2)$$

上記の式より得られた吸収速度 (3.8 mg/h) から貼付面積 140  $\text{cm}^2$  を除したときに算出された値は、27  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$  となった。今回の系で得られた最大の Flux は、約 3.00  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$  であったため、求められた吸収速度には約 9 倍吸収速度を上昇させる必要がある。しかし、実際の製剤設計を考えたときには、製剤中の EPL 含量を増加させたりするなど、更なる皮膚透過性の改善の余地はあると考えられる。

## 5. まとめ

本研究では、CD を用いた EPL の溶解性改善に加え、水溶液中および固体状態における EPL と  $\beta$ -CD 誘導体の相互作用について検討した。また、EPL の皮膚透過性向上についても試みた。

天然 CD および  $\beta$ -CD 誘導体を用いた溶解度相図の結果から、HB- $\beta$ -CD は、EPL の溶解性改善に最も優れていることが明らかとなった。HB-、DM-、SBE-ならびに HP- $\beta$ -CD との混合粉碎における精製水中での EPL 濃度は、作製した相図から求めた同一 CD 濃度における EPL 濃度と比較して、約 2 倍以上高い値を示したことから、混合粉碎により更なる EPL の溶解性改善が認められた。また、調製した GM の精製水中における粒度分布測定より、いずれの  $\beta$ -CD 誘導体との GM でも、微粒子を形成している可能性が示唆された。粉碎処理前後における EPL の固体中での分子状態は、DSC、PXRD ならびに IR 測定により検討し、EPL が  $\beta$ -CD 誘導体分子中に分子分散し、非晶質化した状態で存在していることが示唆された。さらに、IR 測定より、EPL と  $\beta$ -CD 誘導体の固体中での相互作用は認められなかった。以上の結果より、EPL と  $\beta$ -CD 誘導体との混合粉碎による EPL の溶解性改善は、EPL の非晶質化、EPL と CD の包接複合体形成ならびに微粒子形成といった複数の要因によるものであると考えられた。

EPL 単味および EPL と  $\beta$ -CD 誘導体との PM と比較して、GM を用いることにより、EPL の皮膚透過性は向上した。特に、 $\beta$ -CD 誘導体との GM の中で、DM- $\beta$ -CD を用いたときに EPL の Flux は最大となった。これは EPL の溶解性改善のみならず、DM- $\beta$ -CD が持つ界面活性作用が角質の細胞間脂質に対して影響を与える、もしくは角質細胞間脂質を構成するコレステロールの抽出によって、EPL の皮膚透過性が改善されたと考えられた。更に、DM- $\beta$ -CD との GM に吸収促進剤を併用した系では、Urea を 10% の濃度で添加することにより、EPL の経皮吸収性は、EPL 単味と比較して約 300 倍向上した。この理由として、Urea を添加したことによる

EPLの溶解性改善および皮膚保湿効果が考えられた。

今後は、*In vitro*では、更なる皮膚透過速度の改善、パップ剤やテープ剤などの製剤化、*In vivo*では作製した製剤による薬物動態試験など、有用性および実用性を実証するために、様々な問題を克服しなければならないものの、本研究により、CDを用いたEPLの可溶性および皮膚透過性改善について基礎的な知見を見出すことができた。

#### 謝辞

本研究を遂行するに当たり、平成25年度星薬科大学大谷記念研究助成金を賜りましたことに対し、大谷卓男理事長ならびに田中隆治学長に深く感謝申し上げます。また、本研究の遂行のために、ご指導・ご協力を賜りま

した星薬科大学薬品物理化学教室 上田晴久前教授、長瀬弘昌准教授、応用放射薬品科学教室 遠藤朋宏准教授、日本大学薬学部薬剤学研究室 伴野和夫教授に深謝申し上げます。

また、EPLを提供して頂きました小林化工株式会社、 $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -HB-ならびにHP- $\beta$ -CDを提供して頂きました日本食品化工株式会社、SBE- $\beta$ -CDを提供して頂きましたCydex Pharmaceuticals Inc.、DM-、 $G_1$ -ならびに $G_2$ - $\beta$ -CDを提供して頂きました塩水港精糖株式会社、NMPを提供して頂きましたISP TECHNOLOGIES Inc.、POEを提供して頂きました日本油脂株式会社、SE 1816 および 1216 を提供して頂きました三菱化学フーズ株式会社に厚く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) 厚生労働省健康局, 平成14年度糖尿病実態調査報告, 20-22, 厚生労働省 (2004)
- 2) 鈴木誠司, 奥田諭吉, 糖尿病性神経障害, プロスタサイクリンの多様性と今後の展望, 森下竜一編, 152-163, メディカルレビュー社 (2002)
- 3) 後藤由夫, 菅原真, 塩田善朗, 土井邦紘, 林弘, 糖尿病性神経障害に関する調査研究, 日本臨床内科医会誌, **16**, 167-195 (2001)
- 4) American Diabetes Association, American Academy of Neurology, Consensus statement: Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy. *Diabetes Care.*, **11**, 592-597 (1988)
- 5) 森香奈子, 糖尿病性神経障害, EBM 糖尿病ハンドブック, 103-105, 寺内康夫編, 中外医学社 (2010)
- 6) 植木彬夫, 自立神経障害, 糖尿病最新の治療 2010-2012, 河盛隆造, 岩本安彦編, 191-201, 南江堂 (2010)
- 7) 佐々木秀行, 山本尚哉, 岡本訓久, 小河健一, 山崎浩, 貴志豊, 中啓吾, 三家登喜夫, 南條輝志男, 起立性低血圧を呈する糖尿病患者の臨床像, 糖尿病学会誌, **42**, 917-925 (1999)
- 8) 小野薬品工業株式会社, キネダック錠®50 mg-インタビューフォーム, (2007), 6月 (第4版)
- 9) R. N. Greenberg, Overview of patient compliance with medication dosing: A literature review, *Clin. Ther.*, **6**, 592-599 (1984)
- 10) 橋田充, 岡本浩一, 経皮吸収の改善, 医薬品の開発第13巻薬物送達, 鈴木郁生, 瀬崎仁編, 87-133, 廣川書店 (1989)
- 11) 木村聰城朗, 薬物吸収の薬学的装飾, ドラッグデリバリーシステム: 新しい剤形を中心とした製剤学, 瀬崎仁編, 89-107, 南光堂 (2006)
- 12) B. W. Barry, Lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement, *J. Control. Release*, **15**, 237-248 (1991)
- 13) H. Matsuda, H. Arima, Cyclodextrins in transdermal and rectal delivery, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **36**, 81-99 (1999)
- 14) 上釜兼人, 正木勝広, 有森和彦, 入江徹美, 平山文俊, プレドニゾロンの各種軟膏基剤からの放出及び経皮吸収に対する $\beta$ -およびジメチル $\beta$ -シクロデキストリンの影響, 薬学雑誌, **107**, 449-456 (1987)
- 15) M. V. Bentley, R. F. Vianna, F. Wilson, J. H. Collett, Characterization of the influence of some cyclodextrins on the stratum corneum from the hairless mouse. *J. Pharm. Pharmacol.*, **49**, 397-402 (1997)
- 16) R. F. Lopez, J. H. Collett, M. V. Bentley, Influence of cyclodextrin complexation on the in vitro permeation and skin metabolism of dexamethasone, *Int. J. Pharm.*, **200**, 127-132 (2000)
- 17) J. Szejtli, Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry, *Chem. Rev.*, **98**, 1743-1753 (1998)
- 18) T. Loftsson, D. Duchêne, Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, *Int. J. Pharm.*, **329**, 1-11 (2007)
- 19) M. E. Brewster, T. Loftsson, Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **59**, 645-666 (2007)
- 20) 上田晴久, 製剤素材としてのシクロデキストリン類の有用性, 材料技術, **16**, 11-21 (1998)
- 21) N. Zhang, J. Li, W. Jiang, C. Ren, J. Li, J. Xin, K. Li, Effective protection and controlled release of insulin by cationic  $\beta$ -cyclodextrin polymers from alginate/chitosan nanoparticles, *Int. J. Pharm.*, **393**, 212-218 (2010)
- 22) F. Maestrelli, N. Zerrouk, M. Cirri, N. Mennini, P. Mura, Microspheres for colonic delivery of ketoprofen-hydroxy- $\beta$ -cyclodextrin complex, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **34**, 1-11 (2008)
- 23) F. M. Mady, A. E. Abou-taleb, K. A. Khaled, K. Yamasaki, D. Iohara, T. Ishiguro, F. Hirayama, K. Uekama, M. Otagiri, Enhancement of the aqueous solubility and masking the bitter taste of famotidine using Drug/SBE- $\beta$ -CyD/Povidone K30 complexation approach, *J. Pharm. Sci.*, **99**, 4285-4294 (2010)

- 24) M. Agueros, L. Ruiz-Gaton, C. Vauthier, K. Bouchemal, S. Espuelas, G. Ponchel, J. M. Irache, Combined hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and poly (anhydride) nanoparticles improve the oral permeability of paclitaxel, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **38**, 405-413 (2009)
- 25) I. I. Abu Hashima, T. Higashi, T. Anno, K. Motoyama, A. E. Abd-ElGawad Helmy, M. H. El-Shabouri, T. M. Borg, H. Arima, Potential use of  $\gamma$ -cyclodextrin polypseudorotaxane hydrogels as an injectable sustained release system for insulin, *Int. J. Pharm.*, **392**, 83-91 (2010)
- 26) T. Higuchi, K. A. Connors, Phase-solubility techniques, *Adv. Anal. Chem. Instrum.*, **4**, 117-212 (1965)
- 27) M. Y. Rekharsky, Y. Inoue, Detection of paramagnetic pH dependent inclusion complexes, *Chem. Rev.*, **98**, 1875-1896 (1998)
- 28) T. Loftsson, D. Hreinsdottir, M. Massson, Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs, *Int. J. Pharm.*, **302**, 18-28 (2005)
- 29) M. Iwata, T. Fukami, D. Kawashima, M. Sakai, T. Furuishi, T. Suzuki, K. Tomono, H. Ueda, Effectiveness of mechanochemical treatment with cyclodextrins on increasing solubility of glimepiride, *Pharmazie*, **64**, 480-484 (2009)
- 30) T. Fukami, A. Mugishima, T. Suzuki, S. Hidaka, T. Endo, H. Ueda, K. Tomono, Enhancement of water solubility of fullerene by cogrinding with mixture of cyclodextrins  $\alpha$ -1,4-glucans, via solid-solid mechanochemical reaction, *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 961-964 (2004)
- 31) A. Wongmekiat, S. Yoshimatsu, Y. Tozuka, K. Moribe, K. Yamamoto, Investigation of drug nanoparticle formation by co-grinding with cyclodextrins: Studies for Indomethacin, Furosemide and Naproxen, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **56**, 29-32 (2006)
- 32) A. Wongmekiat, Y. Tozuka, K. Moribe, T. Oguchi, K. Yamamoto, Preparation of drug nanoparticles by co-grinding with cyclodextrin: Formation mechanism and factors affecting nanoparticle formation, *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 359-363 (2007)
- 33) A. Wongmekiat, Y. Tozuka, K. Moribe, T. Oguchi, K. Yamamoto, Formation of fine drug particles by cogrinding with cyclodextrins. I. the use of  $\beta$ -Cyclodextrin Anhydrate and Hydrate, *Pharm. Res.*, **19**, 1867-1872 (2002)
- 34) A. Wongmekiat, Y. Tozuka, K. Moribe, T. Oguchi, K. Yamamoto, Formation of fine drug particle by cogrinding with cyclodextrins part II. The influence of moisture condition during cogrinding process on fine particle formation, *Int. J. Pharm.*, **265**, 85-93 (2003)
- 35) 久保輝一郎, 医薬品とメカノケミストリー, 有機物のメカノケミストリー, 165-179, 総合技術出版 (1986)
- 36) U. Numanoglu, T. Sen, N. Tarimci, M. Kartal, O. M. Y. Koo, H. Onyüksel, Use of cyclodextrin as a cosmetic delivery system for fragrance materials: Linalool and benzyl acetate, *AAPS. Pharm. Sci. Tech.*, **8**, E85 (2007)
- 37) B. Yang, J. Lin, Y. Chen, Y. Liu, Artemether/hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin host-guest system: Characterization, phase-solubility and inclusion mode, *Bioorg. Med. Chem.*, **17**, 6311-6317 (2009)
- 38) J. He, W. Li, Complex formation of cinnamaldehyde-methyl- $\beta$ -cyclodextrin and muscone-methyl- $\beta$ -cyclodextrin by supercritical carbon dioxide processing and sealed heating method, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **63**, 61-68 (2009)
- 39) H. M. Cabral Marques, J. Hadgraft, I. W. Kellaway, W. J. Pugh, Studies of cyclodextrin inclusion complexes. II. Molecular modeling and  $^1\text{H}$  NMR evidence for the salbutamol- $\beta$ -cyclodextrin complex, *Int. J. Pharm.*, **63**, 267-274 (1990)
- 40) R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle, 赤外分光スペクトル, 有機化合物のスペクトルによる同定法 (第7版), 100-101, 東京化学同人 (2006)
- 41) C. A. Ventura, S. Tommasini, A. Falcone, I. Giannone, D. Paolino, V. Sdrafkakis, M. R. Mondello, G. Puglisi, Influence of modified cyclodextrins on solubility and percutaneous absorption of celecoxib through human skin, *Int. J. Pharm.*, **314**, 37-45 (2006)
- 42) A. C. Williams, B. W. Barry, Penetration enhancers, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **56**, 603-618 (2004)
- 43) T. Ishiguro, F. Hirayama, D. Iohara, H. Arima, K. Uekama, Crystallization and polymorphic transitions of chlorpropamide in aqueous 2-hydroxybutyl- $\beta$ -cyclodextrin solution, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **39**, 248-255 (2010)
- 44) N. Ono, F. Hirayama, H. Arima, K. Uekama, J. H. Rytting, Model analysis for oral absorption of a drug/cyclodextrin complex involving competitive inclusion complexes, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **44**, 93-96 (2002)
- 45) D. A. Godwin, C. J. Wiley, L. A. Felton, Using cyclodextrin complexation to enhance secondary photoprotection of topically applied ibuprofen, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **62**, 85-93 (2006)
- 46) M. Gloor, J. Fluhr, B. Wasik, W. Gehring, Clinical effect of salicylic acid and high dose urea applied in standardized NRF formulations, *Pharmazie*, **56**, 810-814 (2001)
- 47) Endo Pharmaceuticals Inc., LIDODERM<sup>®</sup>, Prescribing information, (2010)